

NEUROPROTECCION EN LA ENCEFALOPATIA HIPOXICO ISQUEMICA PERINATAL TRATAMIENTOS CON EFICACIA CLINICA DEMOSTRADA Y PERSPECTIVAS FUTURAS

AGUSTIN LEGIDO¹, IGNACIO VALENCIA¹, CHRISTOS D. KATSETOS¹, MARIA DELIVORIA-PAPADOPOULOS²

¹Sección de Neurología y ²Neonatología, Departamento de Pediatría, St. Christopher's Hospital for Children, Drexel University College of Medicine, Philadelphia, USA

Resumen El objetivo de este trabajo es revisar el resultado de estudios clínicos recientes que han demostrado el efecto neuroprotector de algunas terapias en la encefalopatía hipóxico-isquémica (EHI) perinatal y presentar las perspectivas futuras de otras investigaciones clínicas y experimentales. *Terapias con eficacia clínica demostrada. Alopurinol:* Bloquea la producción de radicales libres tras hipoxia-isquemia. En un estudio reciente, los niños con corazón izquierdo hipoplásico tratados con alopurinol, pero no aquéllos con otras cardiopatías, tuvieron un número significativamente menor de complicaciones que los controles, incluyendo muerte, convulsiones, coma o problemas cardíacos. *Opiáceos:* En otro estudio reciente, un grupo de recién nacidos con EHI tratados con morfina o fentanil tuvieron un grado menor de lesión cerebral en la RMN y un mejor pronóstico neurológico. *Hipotermia:* Tanto la hipotermia localizada (cerebral) como la sistémica (todo el cuerpo) tienen un efecto neuroprotector en recién nacidos seleccionados tras sufrir EHI. *Perspectivas Futuras. Fármacos antiepilépticos.* Estos tienen mecanismos de acción múltiple que pueden bloquear la cascada bioquímica de lesión neuronal en EHI. *Otras modalidades terapéuticas.* Entre ellas hay que destacar el estudio de la terapia neuroprotectora combinada, los factores de crecimiento, la terapia genética, el trasplante de células madre y la vacunación neuroprotectora. En conclusión, un mejor conocimiento de los mecanismos moleculares de la patogenia de la EHI y mejores estudios clínicos con terapias neuroprotectoras abrirá nuevas posibilidades terapéuticas aplicables en la práctica clínica. Todo ello mejorará sin lugar a duda el pronóstico de los recién nacidos con EHI.

Palabras clave: neuroprotección, encefalopatía hipóxico-isquémica perinatal, alopurinol, opiáceos, hipotermia, fármacos antiepilépticos

Abstract *Neuroprotection in perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy. Effective treatment and future perspectives.* The aim of this paper is to review the results of recent clinical studies of some therapies that have demonstrated a neuroprotective effect in perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) and to present the future perspectives of other clinical and basic research investigations. *Therapies with demonstrated clinical efficacy: Allopurinol:* It blocks the production of free radicals following hypoxia-ischemia. In a recent study, infants with hypoplastic left heart syndrome treated with allopurinol, but not those with other congenital cardiopathies, had significantly less number of complications than controls, including death, seizures, coma or cardiac events. *Opioids:* In another recent study, newborns with HIE treated with morphine or phentanyl, had less severe brain damage on MRI and a better neurological outcome. *Hypothermia:* Both local (head cooling) or systemic (whole body) hypothermia have a neuroprotective effect in selected newborns with HIE. *Future perspectives: Antiepileptic drugs.* They have multiple mechanisms of action that can block the biochemical cascade of neuronal damage in HIE. *Other therapeutic modalities.* Among them the following should be emphasized: combined neuroprotective treatments, growth factors, genetic therapies, stem cell transplant, and neuroprotective immunization. In conclusion, a better knowledge of the molecular mechanisms of HIE pathogenesis and better clinical studies of neuroprotective therapies will open new possibilities applicable to clinical practice. These advances will undoubtedly improve the prognosis of newborns with HIE.

Key words: neuroprotection, perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy, opioids, hypothermia, antiepileptic drugs

El concepto de neuroprotección se refiere al tratamiento dirigido a prevenir la lesión neuronal en casos de

encefalopatías agudas (hipóxica, isquémica, traumática, infecciosa, epiléptica o tóxica). Puede usarse también para referirse a terapias para la prevención del inicio o de la progresión de encefalopatías crónicas (enfermedades degenerativas)¹⁻³.

En las últimas décadas ha habido una explosión de estudios experimentales que han aclarado los mecanis-

mos patogénicos de lesión neuronal secundaria a hipoxia-isquemia perinatal³⁻⁸. Igualmente, utilizando modelos animales de hipoxia global o focal, o cultivos celulares en el laboratorio, se ha estudiado el efecto preventivo de lesión neuronal de muchos fármacos y productos químicos, un gran porcentaje de los cuales han demostrado un efecto neuroprotector^{3, 4, 7-13}.

A pesar de ello, la aplicación de tratamientos neuroprotectores a la realidad clínica de la encefalopatía hipóxico-isquémica perinatal (EHI) es inexistente. Estudios recientes de investigación clínica han comprobado que ciertas terapias tienen un efecto neuroprotector, sugiriendo que quizá puedan generalizarse para su uso en la práctica clínica en un futuro no muy lejano^{14, 15}.

El objetivo de este trabajo es revisar el resultado de dichos estudios recientes y presentar las perspectivas futuras de otras investigaciones clínicas y experimentales que demuestran la posibilidad de utilizar otras modalidades terapéuticas, las cuales pueden mejorar el pronóstico de los recién nacidos con EHI.

Tratamientos neuroprotectores con eficacia clínica demostrada

Fármacos

Alopurinol

El alopurinol es un inhibidor de la xantina oxidasa (XO), una enzima que regula el metabolismo de hipoxantina (formada a partir del ATP) a radicales libre durante el proceso de hipoxia-isquemia-reperfusión. Esta enzima también participa en el metabolismo del ácido úrico. La isquemia-reperfusión produce lesión de órganos con alto contenido en XO (hígado e intestino), liberación de XO a la circulación y lesión de órganos a distancia con bajo contenido en XO (corazón, cerebro)^{15, 16}. Los radicales libres son uno de los componentes de la cascada bioquímica de lesión neuronal en situación de hipoxia-isquemia y, por lo tanto, el bloqueo de su producción con alopurinol protege de lesión neuronal³⁻⁸.

En animales de experimentación, se conoce desde hace tiempo el efecto neuroprotector del alopurinol. Su administración a ratas a los 7 días de vida, 30-45 minutos antes de producir isquemia focal mediante ligadura de la arteria carótida, reduce significativamente el tamaño del infarto isquémico¹⁷. Además, el alopurinol previene las modificaciones de la afinidad iónica del receptor de NMDA, que se producen durante la hipoxia y, de esta manera, atenúa la excito-toxicidad mediada por dicho receptor¹⁸. Otro mecanismo neuroprotector adicional del alopurinol es el aumento de la acumulación de adenosina que produce en situación de hipoxia, con lo cual potencia el efecto neuroprotector intrínseco de este nucleósido inhibidor¹⁹.

En humanos, el primer trabajo sobre el efecto neuroprotector del alopurinol fue el de Russell y Cooke en 1995²⁰. Estos autores estudiaron el efecto preventivo del alopurinol sobre el desarrollo de leucomalacia periventricular (LPV), en 400 recién nacidos prematuros de 24 a 32 semanas de edad gestacional. El alopurinol, o el placebo, se administraron por vía nasogástrica, a una dosis de 20 mg/kg/día, en una concentración de 20 mg/ml, durante siete días. Los niveles plasmáticos de hipoxantina fueron significativamente más elevados en los recién nacidos que posteriormente desarrollaron LPV, displasia broncopulmonar, o retinopatía del prematuro. Sin embargo, la incidencia de LPV fue la misma en los grupos tratados con alopurinol o con placebo, descartando así un efecto neuroprotector.

En 1998, Van Bel y cols²¹ investigaron el efecto de una dosis de 40 mg/kg de alopurinol intravenoso sobre el nivel de radicales libres, el flujo sanguíneo cerebral (FSC) y la actividad eléctrica cerebral (EEG) en 11 recién nacidos a término con asfixia severa y 11 controles, a las 4 horas de nacer. El tratamiento con alopurinol disminuyó la mortalidad a 18% (de 55% en el grupo control), mejoró el FSC, el EEG y redujo la formación de radicales libres.

Recientemente, Benders y cols²² realizaron un estudio randomizado, a doble ciego, controlado con placebo, de 32 recién nacidos con asfixia severa tratados con 40 mg/kg de alopurinol intravenoso en las primeras 4 horas de vida. La tasa de mortalidad y morbilidad no se vio afectada por el tratamiento con alopurinol. Las explicaciones que los autores dieron para explicar los resultados fueron que la selección de recién nacidos con asfixia severa es inapropiada para demostrar un efecto neuroprotector, o que la administración postnatal de alopurinol es demasiado tardía para reducir la lesión cerebral causada por el proceso de perfusión post-hipóxico. Sin embargo, ellos piensan que el tratamiento precoz de las madres durante el proceso de parto, cuando la monitorización del latido cardíaco fetal muestra signos de sufrimiento, puede tener un efecto neuroprotector eficaz.

En el 2001, Clancy y cols¹⁵ publicaron los resultados de su investigación sobre el efecto neuroprotector del alopurinol, la cual fue sufragada por una beca de los National Institutes of Health (NIH). Los autores utilizaron un modelo de experimentación clínica controlado, como es el de los niños sometidos a cirugía cardíaca para corregir una malformación congénita, los cuales están a riesgo de padecer episodios hipóxico-isquémicos y lesión cerebral. El estudio se desarrolló en un único centro hospitalario y fue randomizado y controlado con placebo. Se incluyeron un total de 318 niños con cardiopatía congénita, 131 del tipo de corazón izquierdo hipoplásico (CIHP) y 187 de otro tipo, los cuales fueron sometidos a tratamiento quirúrgico. El alopurinol se administró antes, durante y después de la cirugía, a una dosis total de 85 mg/kg. Durante el período de *bypass* cardiopulmonar se dismi-

nuyó la temperatura corporal hasta el punto de paro circulatorio.

Como parámetros pronósticos se evaluaron la presencia de complicaciones de muerte, convulsiones, coma o problemas cardíacos (episodios de deterioro cardiorrespiratorio que necesitaron reanimación inmediata) durante el tiempo de ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos, o hasta las 6 semanas de vida. Un mayor porcentaje de pacientes con CIHP tratados con alopurinol (85%), no tuvieron ningún tipo de complicación en comparación con el porcentaje (55%) de pacientes en el grupo control ($p=0.02$). Por otra parte, los pacientes con CIHP tratados con alopurinol tuvieron menos convulsiones ($p=0.05$) y menos problemas cardíacos ($p=0.03$), cuando se analizaron como datos pronósticos independientes. Los autores concluyeron que el alopurinol proporciona protección neurológica y cardíaca en niños con cardiopatía del tipo de CIHP sometidos a cirugía cardíaca utilizando parada circulatoria con hipotermia profunda.

Opiáceos

Los efectos antinociceptivos de los opiáceos están mediados por una combinación de hiperpolarización pre- y postsináptica, que produce una disminución en la liberación y en la sensibilidad a los mediadores endógenos como el glutamato^{23, 24}. Ello sugiere que pueden tener un efecto neuroprotector. De hecho, estudios en cultivos celulares han demostrado que tanto los opiáceos endógenos como los exógenos pueden proteger las neuronas corticales de la muerte celular inducida por hipoxia^{25, 26}. Igualmente, los opiáceos pueden inducir tolerancia isquémica en las células de Purkinje del cerebelo sometidas a isquemia-reperusión²⁷. Los antagonistas de los receptores opiáceos aumentan el tiempo de supervivencia durante hipoxia severa en animales intactos^{28, 29} y aumentan la preservación tisular y el tiempo de supervivencia de órganos utilizados para transplantes³⁰.

Recientemente, Angeles y cols³¹, publicaron el resultado de un estudio retrospectivo de 52 recién nacidos a término con asfixia perinatal, en el que analizaron la relación entre tratamiento con analgésicos opiáceos (morfina o fentanil) y lesión neurológica. Un 33% de ellos recibieron dicho tratamiento y, a pesar de padecer un grado más severo de hipoxia (mayor elevación de lactato, menor puntuación de Apgar a los 5 minutos), este grupo de recién nacidos tuvo lesión cerebral menos severa en la RMN. Además, su pronóstico neurológico a una media de 13 meses de seguimiento fue mejor que el del grupo de niños no tratado con opiáceos. Los autores concluyeron que el uso de opiáceos durante la primera semana de vida tras asfixia perinatal no tiene efectos secundarios a largo plazo y puede aumentar la resistencia cerebral al daño hipóxico-isquémico. Asimismo, los autores especularon que el efecto neuroprotector de los

opiáceos puede ser debido a la elevación que producen en los niveles de adenosina, un nucleósido endógeno con actividad neuroprotectora, o la hiperpolarización neuronal que inducen, resultando en disminución de la penetración intracelular de calcio.

Hipotermia

Uno de los conceptos terapéuticos de la EHI más excitante desarrollado durante los últimos 30 años es que la hipotermia puede atenuar la lesión cerebral secundaria a hipoxia-isquemia³²⁻³⁵.

La patogenia de la EHI es un proceso que evoluciona en varias fases. Durante la *fase inmediata de reperusión*, al reinstaurarse la circulación cerebral, se restaura el metabolismo energético celular en unos 30 minutos aproximadamente, con resolución de la despolarización aguda neuronal inducida por la hipoxia, así como del edema celular. A continuación progresa la *fase latente*, en la cual el paciente puede tener un metabolismo energético oxidativo casi normal, pero manifiesta una depresión de la actividad electroencefalográfica y disminución del flujo sanguíneo cerebral. Esta fase latente se asocia con el inicio de la cascada bioquímica intracelular que lleva a lesión neuronal³⁻⁸. Finalmente el proceso evoluciona a una fase de deterioro secundario con convulsiones, edema citotóxico y acúmulo extracelular de citocinas excitotóxicas, fallo del metabolismo oxidativo y muerte celular^{3-8, 13, 32}.

La hipotermia tiene un efecto neuroprotector moderado si es breve (0.5-3 horas) durante la fase de reperusión si se inicia inmediatamente, por ejemplo dentro de los primeros 15 minutos tras hipoxia-isquemia reversible, con reducción de la temperatura corporal en 1-3 °C (hipotermia leve). Sin embargo, la protección se pierde si la hipotermia se retrasa hasta los 30 minutos. Por el contrario, la continuación de la hipotermia durante las fases latente y secundaria (hipotermia prolongada hasta 72 horas tras hipoxia-isquemia) produce una mejor neuroprotección, incluso si se retrasa su comienzo hasta 6 horas. El grado de hipotermia también está en relación con su efecto neuroprotector, de manera que una disminución moderada de la temperatura corporal (4-6 °C), es más eficaz que una disminución leve (1-3 °C), mientras que una hipotermia profunda (menos 15-20 °C) puede producir efectos secundarios importantes³²⁻³⁴.

Los mecanismos neuroprotectores de la hipotermia son múltiples: 1) Disminuye el consumo cerebral de oxígeno, 2) Enlentece la disminución de fosfocreatina/fósforo inorgánico (PCr/Pi), 3) Suprime la actividad citotóxica de los aminoácidos excitadores, 4) Inhibe la actividad de la sintetasa del óxido nítrico, 5) Disminuye el nivel de interleukina-1Beta, 6) Disminuye la liberación de citocinas tóxicas por la microglia/glia, 7) Suprime la actividad de los radicales libres, 8) Suprime la apoptosis y 9) Dismi-

nuye la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, la presión intracraneal y el edema cerebral³²⁻³⁴.

Las investigaciones clínicas en recién nacidos con EHI han estudiado dos modalidades de hipotermia: 1) Local o selectiva de la cabeza (utilizando un gorro alrededor de la cabeza por el que circula agua a 10 °C) y 2) Sistémica o de todo el cuerpo (utilizando sábanas alrededor del cuerpo del paciente conectadas a un sistema de enfriamiento).

El primer estudio con hipotermia selectiva de la cabeza fue publicado en 1998 por Gunn y cols³⁵, los cuales fundamentalmente demostraron la seguridad de este procedimiento. Posteriormente, este mismo grupo de investigadores^{36, 37} publicó los resultados de otras investigaciones en un número pequeño de pacientes, que confirmaron la ausencia de efectos secundarios y una tendencia a un mejor pronóstico neurológico en aquellos recién nacidos con EHI moderada o severa tratados con esta técnica de hipotermia.

En el 2005, Gluckman y cols³⁸ publicaron los resultados del estudio más importante que ha producido datos fiables y significativos sobre el efecto neuroprotector de la hipotermia selectiva de la cabeza. Se trató de una investigación multicéntrica, en la que se incluyeron 234 recién nacidos de más de 36 semanas de edad gestacional, con EHI. Esta se definió en base a pH menor de 7.0, déficit de base igual o superior a 16 mmol/l, Apgar a los 10 minutos igual o menor de 5, o necesidad de reanimación cardiopulmonar superior a 10 minutos, exploración neurológica anormal de acuerdo a los criterios de Sarnat para encefalopatía moderada o severa y EEG de amplitud integrada anormal (aEEG). Los pacientes se randomizaron antes de las 5.5 horas de vida a dos grupos: normotermia o hipotermia corporal de 34.5°C, producida mediante enfriamiento selectivo de la cabeza, durante 72 horas. Los pacientes tratados con hipotermia tuvieron una incidencia significativamente mayor de arritmia (mayormente bradicardia sinusal). Un total de 218 lactantes se siguieron hasta los 18 meses. La presencia de muerte o discapacidad neurológica se encontró en 66% de los pacientes del grupo control y en 55% del grupo de hipotermia ($p < 0.1$). Sin embargo, cuando se excluyeron los recién nacidos con depresión severa o convulsiones en el aEEG, 66% del grupo control y 48% del grupo tratado con hipotermia fallecieron o tuvieron discapacidad neurológica ($p < 0.02$). Además, la presencia de discapacidad neurológica severa fue 28% y 12% en ambos grupos, respectivamente. ($p < 0.03$). Los autores concluyeron que, excepto en los recién nacidos con las formas más severas de EHI, la hipotermia selectiva de la cabeza aplicada inmediatamente tras el parto, puede ser una técnica terapéutica factible para reducir las secuelas neurológicas de la EHI perinatal.

El primer estudio con hipotermia generalizada de todo el cuerpo fue publicado en el 2000 por Azzopardi y cols³⁹,

los cuales encontraron que la hipotermia prolongada de 33-34 °C se asociaba con cambios fisiológicos mínimos (p.ej., disminución del latido cardíaco, aumento de la tensión arterial), pero era bien tolerada. En los tres años siguientes, otros protocolos de investigación en un número limitado de pacientes comprobaron que esta técnica era factible y demostraron de nuevo su seguridad clínica⁴⁰⁻⁴².

En el 2005, Eicher y cols^{43, 44} publicaron los resultados de un estudio multicéntrico piloto sobre la seguridad y eficacia del uso de hipotermia corporal generalizada en el tratamiento de 32 recién nacidos con EHI perinatal. Los efectos secundarios incluyeron bradicardia, hipotensión, disminución de las plaquetas, aumento del tiempo de protrombina y mayor incidencia de convulsiones, pero ninguno fue grave y todos respondieron al tratamiento⁴³. El análisis de eficacia mostró una mayor incidencia de muerte o afectación neuromotora severa en el grupo de pacientes controles (82%) en comparación con el grupo de recién nacidos tratados (52%) ($p = 0.019$). Un retraso del desarrollo psicomotor severo (menor de 70) se observó en 64% del grupo control y en 24% del grupo sometido a hipotermia ($p = 0.053$).

También en el 2005, Shankaran y cols⁴⁵ publicaron un estudio multicéntrico más amplio sobre el uso de hipotermia generalizada en el tratamiento de la EHI perinatal.

Se incluyeron 208 recién nacidos de más de 36 semanas de edad gestacional, con EHI, definida en base a criterios clínicos, sin considerar hallazgos EEG. Los criterios de inclusión fueron: necesidad de reanimación neonatal, exploración neurológica anormal compatible con encefalopatía moderada o severa, pH inferior a 7.0 y déficit de base igual o superior a 16 mmol/l. Los pacientes se randomizaron antes de las 6 horas de vida a dos grupos: normotermia o hipotermia corporal de 33.5 °C, producida mediante enfriamiento generalizado de todo el cuerpo, durante 72 horas. La incidencia de complicaciones leves fue similar en ambos grupos. El desarrollo psicomotor se siguió hasta los 18-22 meses. La incidencia de muerte o discapacidad neurológica moderada o severa fue 62% en el grupo control y 44% en el grupo tratado con hipotermia. ($p = 0.01$). La incidencia de parálisis cerebral fue 30% en los recién nacidos controles y 19% en aquellos tratados con hipotermia ($p = 0.20$). Los autores concluyeron que la hipotermia generalizada de todo el cuerpo reduce el riesgo de muerte o discapacidad neurológica en recién nacidos con EHI moderada o severa.

Si bien los estudios comentados han demostrado un efecto neuroprotector de las técnicas de hipotermia neonatal, en realidad han planteado un número mayor de preguntas que las que han contestado, entre ellas: ¿Cuáles deben ser los criterios de selección de los pacientes?, ¿cuándo debe iniciarse?, ¿cuál debe ser la duración?, ¿cuál es la técnica más eficaz?, ¿cuál es la seguridad?, ¿debe administrarse sedación o no?, ¿cómo

debe hacerse el recalentamiento corporal?, ¿cuál es el pronóstico a largo plazo?, ¿puede ser más eficaz si se administran simultáneamente otros agentes neuroprotectores?^{16, 33, 34, 46-48}.

Algunas de dichas preguntas se intentan contestar mediante investigaciones adicionales en animales de experimentación⁴⁹⁻⁵³ y estudios clínicos⁵⁴⁻⁵⁶. Mientras tanto, las recomendaciones para la práctica clínica han sido recientemente establecidas por el Nacional Institute of Child Health and Human Development (NICHD), que publicó un Resumen Ejecutivo sobre el tema, con las siguientes conclusiones: "Basados en los datos disponibles y las grandes lagunas de conocimiento, el grupo de expertos sugiere que, aunque la hipotermia parece ser potencialmente una terapia prometedora para la EHI, se necesita establecer todavía la eficacia y seguridad a largo plazo. Los clínicos que elijan ofrecer este tratamiento deberían, por lo tanto, entender todas las limitaciones de la evidencia disponible, estar preparados para mantenerse al día en el conocimiento de este tema a medida que evoluciona, y aconsejar a los padres y familiares sobre las limitaciones de la evidencia actual"⁵⁷.

Perspectivas futuras

Terapia neuroprotectora combinada

Teniendo en cuenta la complejidad de la cascada bioquímica y molecular que caracteriza la fisiopatología de la EHI³⁻⁸, es lógico pensar que el uso de un sólo agente terapéutico actuando a un nivel específico no prevenga completamente la lesión neuronal. De ahí la importancia del concepto de terapia combinada¹⁶, en el que se incluye la administración simultánea de fármacos o fármacos e hipotermia, la cual tiene múltiples mecanismos de acción, como ya hemos comentado³²⁻³⁴.

Tan y Parks¹⁶, en un artículo de revisión de tratamientos neuroprotectores en la asfixia neonatal, sugirieron unos protocolos teóricos, basados en datos de estudios experimentales sobre la eficacia de múltiples sustancias. Así, por ejemplo, propusieron la administración prenatal a la madre, en casos de sufrimiento fetal durante el parto, de una combinación de alopurinol, ácido ascórbico y sulfato de magnesio o antagonistas de los canales de calcio si se asocia hipertensión. Tras el parto, además de evitar la hipocarbía, la hiperoxia o la hipoglucemia, los autores sugirieron el mismo protocolo más fenobarbital.

Lógicamente, para que dichos tratamientos se puedan utilizar en la práctica clínica, se requiere la demostración, en estudios de investigación clínica, de que cada fármaco por separado tiene acción neuroprotectora y que la combinación de varios de ellos potencia dicho efecto. Además, se requiere la contestación de una serie de preguntas que el concepto de terapia combinada hace sur-

gir: ¿Cuáles serían los efectos de la terapia combinada en la madre o en el feto?, ¿podría el metabolismo materno disminuir la eficacia o aumentar los efectos secundarios de los fármacos utilizados?, ¿podría la disfunción multiorgánica en casos de asfixia severa afectar la farmacocinética de los agentes en combinación?, ¿se deberían aplicar los fármacos en paralelo o en secuencia?, ¿podría uno de ellos disminuir la eficacia del otro?, ¿podrían ser peores los efectos secundarios?; si existe riesgo de hipotensión, ¿podría la combinación de fármacos aumentar el daño hipóxico-isquémico inicial?

Así, pues el concepto de terapia combinada es complejo, requiere investigaciones exhaustivas y plantea cuestiones importantes y complejas. Sin embargo, es un hecho que si en el futuro se pretende proporcionar un tratamiento en la EHI, que tenga máxima eficacia neuroprotectora, deberá de hacerse mediante la administración combinada de varios terapias.

Fármacos antiepilépticos (FAEs)

Los mecanismos de lesión neuronal en casos en la encefalopatía epiléptica son similares a los descritos para la EHI^{1, 58}. Por otra parte, los FAEs tienen mecanismos de acción que bloquean muchos de los procesos bioquímicos patogénicos de dicha lesión. Además, las convulsiones son una complicación frecuente de la EHI. Por lo tanto, es lógico pensar que los FAEs podrían utilizarse como agentes neuroprotectores en casos de EHI^{1, 58-63}.

FAEs clásicos

Fenobarbital

El fenobarbital es un FAE con una acción GABA-érgica. A nivel postsináptico, aumenta las corrientes intracelulares de cloro mediadas por el receptor GABA_A. A nivel presináptico, causa una disminución de los potenciales de acción dependientes del Ca²⁺, que es proporcional a su concentración. Todo ello disminuye la excitabilidad neuronal⁶⁴. Además, el fenobarbital disminuye el metabolismo cerebral y el consumo de oxígeno⁶⁵.

Los datos sobre un posible efecto neuroprotector del fenobarbital son controvertidos. En animales de experimentación, Sutula y cols⁶⁶ encontraron que, en ratas adultas a las que se les administró ácido kaínico por vía intraventricular, el tratamiento posterior con 60 mg/kg de fenobarbital durante 5 días suprimió las convulsiones, protegió el giro dentado de lesión excito-tóxica, redujo el brote de fibras musgosas y disminuyó la sensibilidad a *kindling*. Rekling⁶⁷, por su parte, demostró que en cultivos de secciones de hipocampo, el fenobarbital tuvo una acción neuroprotectora al disminuir la muerte celular inducida por privación de oxígeno y glucosa. Por el contrario, otros investigadores, no demostraron que, tras in-

ducir convulsiones en ratas adultas, el fenobarbital protegiera de lesión del hipocampo a largo plazo^{68,69}. Además, otras investigaciones han demostrado un efecto negativo del fenobarbital sobre el crecimiento cerebral⁷⁰ o la proliferación dendrítica⁷¹ y una acción proapoptótica⁷² en el cerebro en desarrollo.

A nivel clínico, Hall y cols⁷³ realizaron un estudio controlado, randomizado, prospectivo de recién nacidos a término con HIE severa. Los autores evaluaron el efecto del fenobarbital (40 mg/kg) en la prevención de convulsiones neonatales. Las convulsiones disminuyeron 27%, aunque esta cifra no resultó estadísticamente significativa. Pero el tratamiento con fenobarbital se asoció con un mejor pronóstico neurológico a los 3 años (73% vs 19% en el grupo control; $p=0.003$). Singh y cols⁷⁴, en un estudio randomizado, administraron fenobarbital (20 mg/kg) a recién nacidos de más de 34 semanas de gestación y midieron los niveles de malondialdehído, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa en el líquido cefalorraquídeo y los niveles sanguíneos de vitamina A y E. Todos ellos fueron significativamente inferiores en el grupo tratado con fenobarbital, y hubo una tendencia a asociar dichos niveles bajos con un pronóstico neurológico normal. Por el contrario, Vargas-Origel y cols⁷⁵ no encontraron que la administración de fenobarbital (40 mg/kg) a recién nacidos con asfixia perinatal, disminuyera la incidencia de HIE o convulsiones. Finalmente, hay que recordar que el tratamiento crónico con fenobarbital en niños con convulsiones febriles se asoció con disminución del cociente intelectual⁷⁶.

Fenitoína

La fenitoína (e igualmente la fosfenitoína) ejerce su mecanismo anticonvulsivante mayormente a través de los canales de sodio. La fenitoína bloquea los canales de membrana a través de los cuales el sodio penetra del exterior al interior de la neurona durante la despolarización, suprimiendo así la descarga eléctrica repetitiva tras la estimulación presináptica⁶⁴.

En estudios en animales de experimentación, la administración intraperitoneal de 100 mg/kg de fenitoína a ratas adultas, a las 0.5 y 24.5 horas tras la oclusión de la arteria cerebral media, redujo el tamaño del infarto cortical en un 40% cuando se midió 3 días después⁷⁷. En un modelo de lesión hipóxico-isquémica inducida con ligadura de la arteria carótida e hipoxia en ratas a los 6 días de vida, la fenitoína demostró un efecto neuroprotector cuando se administró antes de producir hipoxia-isquemia, pero no cuando el tratamiento se hizo inmediatamente después⁷⁸. Vartanian y cols⁷⁹ encontraron hallazgos similares en un modelo similar de hipoxia-isquemia y comprobaron que la fenitoína redujo las fases iniciales de la lesión neuronal, y resaltaron la importancia de la inhibición de los canales de sodio como un mecanismo neuro-

protector en situación de hipoxia-isquemia. En un modelo de hipoxia-isquemia global en ratas adultas, la fosfenitoína tuvo un efecto neuroprotector al reducir la lesión neuronal en el hipocampo de ratas adultas sometidas a hipoxia-isquemia global⁸⁰. Otros autores han demostrado que la fenitoína tiene también un efecto neuroprotector en cultivos de secciones de hipocampo deprivadas de oxígeno y glucosa^{67, 81} y en modelos animales de traumatismo de la médula espinal⁸².

Por otra parte, los hallazgos de los estudios de Bittigau y cols⁷², anteriormente citados en relación al fenobarbital, plantean de nuevo cierta controversia sobre la eficacia neuroprotectora real de la fenitoína. Estos autores encontraron que la administración intraperitoneal de fenitoína a ratas normales de 3-30 días de edad, produjo neurodegeneración cerebral apoptótica, cuya severidad siguió una curva ascendente en dependencia de la dosis administrada.

Carbamacepina

La carbamacepina tiene un efecto antiepiléptico fundamentalmente debido al aumento de los canales de sodio, reduciendo así la actividad excitadora de alta frecuencia de los potenciales de acción. Además, ejerce una acción en la transmisión sináptica. Se ha sugerido un mecanismo de inhibición de la liberación de glutamato, pero su existencia en humanos es dudosa⁶⁴.

En estudios en animales de experimentación, la administración intraperitoneal de 100 mg/kg de carbamacepina a ratas adultas, a las 0.5 y 24.5 horas tras la oclusión de la arteria cerebral media, redujo el tamaño del infarto cortical en un 24% cuando se midió 3 días después⁷⁷. Dong y cols⁸³ demostraron también un efecto neuroprotector de la carbamacepina en un modelo de hipoxia-isquemia global en ratones.

Por el contrario, Minato y cols⁸⁴ encontraron que la carbamacepina sólo tenía un efecto neuroprotector leve a altas dosis (60 mg/kg) en hipoxia isquemia focal producida en ratas mediante la ligadura de la arteria carótida.

Acido valproico

El ácido valproico tiene varios mecanismos de acción, que se consideran antiepilépticos, incluyendo aumento de los niveles cerebrales del neurotransmisor ácido gamma-aminobutírico (GABA), bloqueo de los canales de sodio sensitivos al voltaje y activación de la conductancia de potasio dependiente de calcio. En ratones se ha demostrado también que el ácido valproico disminuye los niveles cerebrales del aminoácido excitador aspartato⁶⁴.

La información disponible sobre el efecto neuroprotector del ácido valproico es controvertida. Recientemente se ha demostrado que este FAE inhibe la desacetilasa

de histonas, lo cual se ha relacionado con una acción neuroprotectora en modelos de stress oxidativo y neurodegenerativos mediados por el glutamato⁸⁵⁻⁸⁷. En un modelo de hipoxia-isquemia focal en ratas de 7 días de vida, la administración de 200 y 400 mg/kg de ácido valproico disminuyó el tamaño del infarto y el número de neuronas apoptóticas⁸⁸. Igualmente, el tratamiento con dos dosis de 600 mg/kg de ácido valproico en ratas a los 35 días de vida, 24 horas tras la inyección de ácido kaínico hasta un mes después, redujo la lesión de la región CA1 del hipocampo, pero no de la CA3, evaluado un mes y medio después del *status epilepticus* inducido por el ácido kaínico⁶⁹. Asimismo, en un modelo de hipoxia global en ratones, el tratamiento crónico con ácido valproico disminuyó los niveles cerebrales de los neurotransmisores excitadores aspartato y glutamato, aumentó los del inhibidor taurina y, la supervivencia de los animales⁸⁹. El ácido valproico ha demostrado un efecto neuroprotector también en *status epilepticus* inducido mediante estimulación eléctrica de la amígdala en ratas⁹⁰, y en un modelo de paro cardíaco con hipotermia en perros⁹¹. En cultivos celulares, este FAE demostró un efecto anti-apoptótico actuando en la vía fosfatidilinositol 3-quinasa/proteína quinasa B^{92, 93} o activando proteínas neurotróficas como factor neurotrófico derivado de cerebro, 70 *heat shock*, y Bcl-2^{93, 94}.

Por otra parte, el ácido valproico no tuvo un efecto neuroprotector en el estudio anteriormente comentado de Minato y cols⁸⁴ o en modelos de epilepsia *in vitro* de estímulo de la vía perforante⁵⁸ o de *status epilepticus* inducido por pilocarpina⁹⁵, o en modelos de hipoxia-isquemia de cultivos de secciones de hipocampo sometidos a privación de oxígeno y glucosa⁶⁷. Además, el trabajo de Bittigau y cols⁷², como ya se ha comentado para el fenobarbital y la fenitoína, encontró que la administración de ácido valproico a ratas normales de 3 a 30 días, produjo un efecto pro-apoptótico dependiente de la dosis.

FAEs nuevos

Lamotrigina

La lamotrigina bloquea los canales neuronales de sodio, inhibe las corrientes de Ca²⁺ de activación de alto voltaje, posiblemente mediante la inhibición de los canales presinápticos tipo N de Ca²⁺, e inhibe la liberación de neurotransmisores excitadores glutamato y aspartato^{60, 64}.

Aunque algunos modelos animales de isquemia no demostraron un efecto neuroprotector de la lamotrigina⁹⁶, este FAE parece tener una eficacia neuroprotectora similar al MK-801 (antagonista del receptor NMDA del glutamato) en la prevención de lesión neuronal mediada por los aminoácidos excitadores⁹⁷. En un modelo de hipoxia-isquemia focal en ratas adultas, la administración intraperitoneal de 100 mg/kg de lamotrigina a las 0.5 y

24.5 horas tras la oclusión de la arteria cerebral media, redujo el tamaño del infarto cortical en un 28% cuando se midió 3 días después⁷⁷. En un modelo similar en ratas, el tratamiento inmediato con 20 mg/kg de lamotrigina intraventricular redujo el volumen del infarto cerebral⁹⁸. En un modelo de hipoxia-isquemia global en el jерbo, producida por ligadura bilateral de las arterias carótidas medias, la lamotrigina previno la pérdida neuronal en la región CA1 del hipocampo cuando se administró inmediatamente tras la reperfundición. El fármaco también redujo la mortalidad y mejoró su comportamiento cognitivo⁹⁹. En el mismo modelo animal, la administración de lamotrigina 30 minutos antes y después de la ligadura de ambas carótidas, produjo un efecto neuroprotector a nivel histológico a los 7 y 28 días. El comportamiento de los animales tratados fue mejor. La medición de la secreción intracerebral de glutamato por medio de microdialísis demostró una disminución significativa¹⁰⁰. La lamotrigina tuvo también un efecto neuroprotector en un modelo de paro cardíaco en ratas, cuando se administró inmediatamente o en un período de tiempo máximo de 5 horas tras el paro¹⁰¹. El efecto neuroprotector de la lamotrigina se potencia con la administración simultánea del antagonista del calcio flunarizina¹⁰² o hipotermia¹⁰³.

Topiramato

El topiramato tiene los siguientes mecanismos anticonvulsivos: bloquea los canales de sodio, aumenta los niveles de GABA y la neurotransmisión dependiente de los canales de cloro, inhibe la actividad del receptor AMPA del glutamato y reduce la amplitud de las corrientes de calcio activadas por alto voltaje, lo cual puede disminuir la liberación de neurotransmisores excitadores. El topiramato también inhibe la anhidrasa carbónica y abre los canales de potasio^{60, 64}.

En estudios en animales de experimentación, la administración de 20-40 mg/kg de topiramato 2 horas tras la embolización de la arteria cerebral media, redujo el volumen del infarto un 55-80%, respectivamente, cuando se evaluó 24 horas después^{104, 105}. En un modelo de hipoxia-isquemia focal en el jерbo, el tratamiento con 100 o 200 mg/kg de topiramato redujo en la región CA 1 del hipocampo la lesión neuronal inducida por la oclusión de la arteria cerebral media¹⁰⁶. El topiramato redujo también la lesión del hipocampo en un modelo experimental de *status epilepticus*¹⁰⁷. En modelos animales de hipoxia-isquemia neonatal, el topiramato demostró un efecto neuroprotector de la apoptosis inducida en el hipocampo por hipoxia y convulsiones en ratas¹⁰⁸, de la lesión neuronal tras hipoxia-isquemia focal en cerdos¹⁰⁹, de la lesión de oligodendrocitos en un modelo de leucomalacia periventricular producida por actividad glutamatérgica en ratas¹¹⁰ y de la lesión excito-tóxica neuronal y de oligodendrocitos inducida por agonistas del glutamato en ratones¹¹¹. En la

rata, se ha demostrado que dosis terapéuticas de topiramato no son tóxicas para el cerebro en desarrollo¹¹².

Zonisamida

La zonisamida ejerce su efecto anticonvulsivante mediante la inhibición de los canales de sodio, disminuye la excito-toxicidad mediada por el glutamato y los canales T de Ca²⁺ y aumenta la actividad GABA-érgica de los canales de cloro. Además inhibe la anhidrasa carbónica y tiene una acción antioxidante^{60, 64}.

En un modelo de oclusión de la arteria cerebral media en ratas adultas, el tratamiento con 10-100 mg/kg de zonisamida oral, 15 o 30 minutos antes y 4 horas tras la oclusión, redujo significativamente la lesión isquémica cerebral⁸⁴. En un modelo de hipoxia-isquemia global en jerbos adultos, la administración de 150 mg/kg de zonisamida antes de la hipoxia produjo menos lesión neuronal en la región CA1 del hipocampo cuando se evaluó a los 7 y 28 días de seguimiento. La medición de los niveles intracerebrales de glutamato por medio de microdiálisis demostró niveles más bajos en los animales tratados¹¹³. En un modelo de hipoxia-isquemia focal en ratas recién nacidas, el tratamiento con 75 mg/kg de zonisamida intraperitoneal una hora antes de la hipoxia, redujo el volumen del infarto cortical y del estriado en un 90%, efecto que fue independiente de la acción anticonvulsivante¹¹⁴.

Levetiracetam

El mecanismo anticonvulsivante del levetiracetam es desconocido, si bien se han sugerido varias posibilidades, incluyendo efectos indirectos en el sistema GABA-érgico a través de la unión a un receptor específico, disminución de la descarga eléctrica en la *pars reticulata* de la *substantia nigra* y activación de procesos dependientes del Ca²⁺⁶⁴.

En un modelo de hipoxia-isquemia focal en ratas adultas, la administración intraperitoneal de 5.5-44 mg/kg de levetiracetam antes de la oclusión de la arteria cerebral media y 1.25-10.2 mg/kg/hora durante 24 horas después, disminuyó el volumen del infarto cerebral en un 33% con la dosis más alta¹¹⁵. Sin embargo, el levetiracetam no demostró un efecto neuroprotector en un modelo de *status epilepticus* inducido con pilocarpina⁹⁵.

En resumen, existe evidencia en investigaciones con animales de experimentación de que tanto los FAEs clásicos como los nuevos tienen efectos neuroprotectores en algunos modelos de hipoxia-isquemia. No hay tanta evidencia clínica de su eficacia, particularmente en el período neonatal y, cuando existe como en el caso del fenobarbital, resulta controvertida. Parece improbable, por sus efectos secundarios⁶⁴, que el ácido valproico fuera considerado para investigar su efecto neuroprotector en

recién nacidos con asfisia perinatal. Por otra parte, los FAEs nuevos tienen múltiples mecanismos de acción, los cuales actúan también como neuroprotectores y ofrecen varios puntos de bloqueo de la cascada patogénica de lesión neuronal en la EHI. Además, los modelos animales de hipoxia-isquemia neonatal, particularmente en el caso de la zonisamida y el topiramato, han demostrado de forma consistente su efecto neuroprotector. Finalmente, no parece existir evidencia de efectos secundarios sobre el cerebro en desarrollo y, en el caso concreto del topiramato, esa evidencia ha sido apoyada por estudios experimentales¹¹². Por lo tanto, es lógico concluir que los FAEs nuevos pueden ofrecer en el futuro un tratamiento eficaz preventivo de la lesión cerebral en la EHI perinatal.

Otras modalidades terapéuticas

Factores de crecimiento

Estudios recientes en distintos modelos experimentales han demostrado que los factores de crecimiento nervioso juegan un papel importante en los procesos de apoptosis secundarios a hipoxia-isquemia¹¹⁶⁻¹¹⁹. La infusión intracerebroventricular o la implantación intracerebral de dichos factores de crecimiento produce un efecto neuroprotector frente a hipoxia-isquemia¹²⁰⁻¹²³.

En humanos, Aguilar y cols¹²⁴ administraron factor de crecimiento fibroblástico a niños con retraso mental secundario a asfisia perinatal y comprobaron una mejoría intelectual. Aunque estos resultados no han sido replicados por otros grupos y son difíciles de creer, este trabajo estimula la necesidad de investigar el papel de los factores de crecimiento en pacientes afectados de hipoxia-isquemia perinatal, así como la necesidad de definir la amplitud de la ventana terapéutica. Quizá ésta se extienda más allá del momento en que se produce la lesión y puede ser que los factores de crecimiento tengan un efecto recuperador en el cerebro en desarrollo.

Tratamiento genético

La hipoxia-isquemia cerebral es uno de los estímulos más potentes para la inducción de genes. Muchos de éstos están relacionados con funciones neurodestructivas, como excito-toxicidad, respuesta inflamatoria y apoptosis neuronal. Por otra parte, la hipoxia-isquemia es también un estímulo importante de genes neuroprotectores. La modificación experimental de la expresión aguda de dichos genes aparece como un tratamiento prometedor de la hipoxia-isquemia, que por el momento se está desarrollando todavía a nivel de investigación¹²⁵. Por ejemplo, la expresión genética en modelos animales de hipoxia-isquemia, de la proteína calbindina D_{28K} ligadora del calcio¹²⁶, del oncogen Bcl-2¹²⁷⁻¹²⁹, o de factores de crecimiento¹³⁰, utilizando vectores virales^{125, 127, 128, 130} o me-

dante la creación de animales transgénicos¹²⁹, ha demostrado un efecto claramente neuroprotector.

Células madre

El trasplante de células madre ofrece un gran potencial como alternativa terapéutica para reemplazar el tejido o las células lesionadas en caso de encefalopatía por hipoxia-isquemia, traumatismo u otras enfermedades neurológicas. Hoy en día no está claro si las células madre actúan reemplazando las neuronas y células gliales dañadas, ejerciendo un papel trófico sobre ellas, o modificando el ambiente local para estimular un proceso de neuroprotección y regeneración^{131, 132}.

Los estudios sobre el uso de células madre en modelos de hipoxia-isquemia están en su infancia. En modelos de EHI neonatal en la rata, el trasplante de células madre astrocíticas multipotenciales o de células madre progenitoras adultas multipotenciales, derivadas de la médula ósea, demostró que estas células pueden sobrevivir, migrar hacia el área lesionada y diferenciarse en neuronas y astrocitos^{133, 134}. En China, un grupo de autores utilizó células madre derivadas de cerebro fetal humano para implantarlas por vía intraventricular en el cerebro de ratas sometidas a hipoxia-isquemia. Estas células, como en los trabajos anteriores, sobrevivieron, migraron y se diferenciaron a neuronas y astrocitos¹³⁵.

Recientemente, se han empleado también células del cordón umbilical con capacidad multipotencial para el tratamiento de la hipoxia-isquemia¹³⁶⁻¹³⁸. Meier y cols¹³⁸ utilizaron un modelo de infarto cerebral producido por oclusión de la arteria carótida en la rata en el período neonatal, el cual produjo una hemiparesia contralateral. A los 8 días de vida, inyectaron en el peritoneo células mononucleares humanas derivadas de cordón umbilical. Las células migraron al cerebro, se concentraron alrededor de zona de lesión cerebral y mejoraron la hemiparesia de los animales. Según Borlongan y cols¹³⁷ no es necesaria la penetración intracerebral de las células mononucleares para observar un efecto neuroprotector, en tanto y en cuanto las moléculas segregadas por ellas puedan cruzar la barrera hematoencefálica.

Vacunación

La manipulación de la respuesta inmune para producir una autoinmunidad protectora se ha utilizado como modalidad terapéutica en varias enfermedades neurológicas, incluyendo traumatismo craneoencefálico cerrado, enfermedad de neurona motora, glaucoma, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson¹³⁹. During y col¹⁴⁰ utilizaron una vacuna para crear protección frente a hipoxia-isquemia en la rata. Los autores diseñaron una vacuna asociada a un adenovirus, la cual produjo autoanticuerpos contra una proteína cerebral, la subuni-

dad NR1 del receptor NMDA del glutamato. Tras la administración oral de la vacuna, la expresión transgénica persistió ocho meses y produjo una fuerte respuesta humoral. Una dosis única de la vacuna se asoció con un efecto neuroprotector importante en un modelo de infarto focal mediante ligadura de la arteria carótida media, al mes y a los cinco meses tras la vacunación.

Conclusiones

Un mejor conocimiento de los mecanismos moleculares de la patogenia de la EHI perinatal abrirá nuevas posibilidades terapéuticas en un futuro no muy lejano.

El alopurinol y los opiáceos son los dos únicos fármacos que han demostrado un efecto neuroprotector clínico en la EHI perinatal.

Existe evidencia de que la hipotermia en recién nacidos de término tiene efecto neuroprotector cuando se aplica en las primeras 6 horas de vida en centros con experiencia en realizar esta intervención.

Los nuevos FAEs, con múltiples mecanismos de acción neuroprotectora deberían investigarse en estudios clínicos de la EHI perinatal.

La terapia combinada es un tratamiento lógico, cuya eficacia también necesita comprobarse en estudios clínicos.

Nuevas modalidades terapéuticas de la EHI perinatal a considerar en el futuro incluyen también los factores de crecimiento nervioso, la terapia genética, las células madre y la vacunación neuroprotectora.

Se necesita urgentemente un esfuerzo colectivo para encontrar soluciones prácticas al tratamiento de la EHI perinatal. La meta debería ponerse bien alta: "la eliminación del daño cerebral perinatal".

Conflicto de interés: ninguno

Bibliografía

1. Valencia I, Legido A. Prevention of epilepsy. En: Benjamin SM (ed). Focus on epilepsy research. Hauppauge: Nova Biomedical Books, 2004, p.1-21.
2. Vajda FJ. Neuroprotection and neurodegenerative disease. *J Clin Neurosci* 2002; 9:4-8.
3. Volpe JJ. Perinatal brain injury: from pathogenesis to neuroprotection. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2001; 7: 56-64.
4. Legido A. Perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy: current advances in diagnosis and treatment. *Int Pediatr* 1994; 9: 114-36.
5. Legido A. Pathophysiology of perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Acta Neuropediatr* 1994; 1: 97-110.
6. Johnston MV. Excitotoxicity in perinatal brain injury. *Brain Pathol* 2005; 15: 234-40.
7. Delivoria-Papadopoulos M, Mishra OP. Mechanisms of cerebral injury in perinatal asphyxia and strategies for prevention. *J Pediatr* 1998; 132 (3 Pt 2): 30-4.

8. Jensen A, Garnier Y, Middelani J, Berger R. Perinatal brain damage-from pathophysiology to prevention. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003; 110 (Supl 1): 70-9.
9. Legido A, Katsetos CD, Mishra OP, Delivoria-Papadopoulos M. Perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy: Current and future treatments. *Int Pediatr* 2000; 15: 143-51.
10. Johnston MV, Trescher WH, Ishida A, Nakajima W. Novel treatments after experimental brain injury. *Semin Neonatol* 2000; 5: 75-86.
11. Vannucci RC, Perlman JM. Interventions for perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics* 1997; 100: 1004-11.
12. Whitelaw A, Thoresen M. Clinical trials of treatments after perinatal asphyxia. *Curr Opin Pediatr* 2002; 14: 664-8.
13. Perlman JM. Intervention strategies for neonatal hypoxic-ischemic cerebral injury. *Clin Ther* 2006; 28: 1353-65.
14. Perlman JM. Summary proceedings from the neurology group on hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics* 2006; 117 (3 Pt2): 28-33.
15. Clancy RR, McGaurn SA, Goin JE, Hirtz DG, Norwood WI, Gaynor JW, et al. Allopurinol neurocardiac protection trial in infants undergoing heart surgery using deep hypothermic circulatory arrest. *Pediatrics* 2001; 108: 61-70.
16. Tan S, Parks DA. Preserving brain function during neonatal asphyxia. *Clin Perinatol* 1999; 26: 733-47.
17. Palmer C, Vannucci RC, Towfighi J. Reduction of perinatal hypoxic-ischemic brain damage with allopurinol. *Pediatr Res* 1990; 27 (4 Pt1): 3322-6.
18. Marro PJ, Andersen CB, Mishra OP, Delivoria-Papadopoulos M. Effect of allopurinol on hypoxia-induced modification of the NMDA receptor in newborn piglets. *Neurochem Res* 1999; 24: 1301-6.
19. Marro PJ, Mishra OP, Delivoria-Papadopoulos M. Effect of allopurinol on brain adenosine levels during hypoxia in newborn piglets. *Brain Res* 2006; 1073-74: 444-50.
20. Russell GA, Cooke RW. Randomized controlled trial of allopurinol prophylaxis in very preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1995; 73: F27-31.
21. Van Bel F, Shadid M, Moison RM, Dorrepaal CA, Fontijn J, Monteiro L, et al. Effect of allopurinol on postasphyxial free radical formation, cerebral hemodynamics, and electrical brain activity. *Pediatrics* 1998; 101: 185-93.
22. Benders MJ, Bos AF, Rademaker CM, Rijken M, Torrance HL, Groenendaal F, et al. Early postnatal allopurinol does not improve short term outcome after severe birth asphyxia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2006; 91: F163-5.
23. Lee J, Kim MS, Park C, Jung EB, Choi DH, Kim TY, et al. Morphine prevents glutamate-induced death of primary rat neonatal astrocytes through modulation of intracellular redox. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2004; 26: 17-28.
24. Yamakura T, Sakimura K, Shimoji K. Direct inhibition of the N-methyl-D-aspartate receptor channel by high concentration of opioids. *Anesthesiology* 1999; 91: 1053-63.
25. Zhang J, Gibney GT, Zhao P, Xia Y. Neuroprotective role of delta-opioid receptors in cortical neurons. *Am J Physiol* 2002; 282: C1225-34.
26. Zhang J, Haddad GG, Xia Y. Delta-, but not mu- and kappa-, opioid receptor activation protects neocortical neurons from glutamate-induced excitotoxic injury. *Brain Res* 2000; 8856: 143-53.
27. Lim YJ, Zheng S, Zuo Z. Morphine preconditions Purkinje cells against cell death under in vitro simulated ischemia-reperfusion conditions. *Anesthesiology* 2004; 100: 562-8.
28. Mayfield KP, D'Alecy LG. Role of endogenous opioid peptides in the acute adaptation to hypoxia. *Brain Res* 1992; 582: 226-31.
29. Mayfield KP, D'Alecy LG. Delta-1 opioid agonist acutely increases hypoxic tolerance. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 268: 683-8.
30. Chien S, Oeltgen PR, Diana JN, Salley RK, Su TP. Extension of tissue survival time in multiorgan block preparation with a delta DADLE ([D-Ala2, D-leu5]-enkephalin). *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 107: 964-7.
31. Angeles DM, Wycliffe N, Michelson D, Holshouser BA, Deming DG, Pearce WJ, et al. Use of opioids in asphyxiated term neonates: effects of neuroimaging and clinical outcome. *Pediatr Res* 2005; 57: 873-8.
32. Gunn AJ. Cerebral hypothermia for prevention of brain injury following perinatal asphyxia. *Curr Opin Pediatr* 2000; 1: 111-5.
33. Gunn AJ, Battin M, Gluckman PD, Gunn TR, Bennet L. Therapeutic hypothermia: from lab to NICU. *J Perinat Med* 2005; 33: 340-6.
34. Gunn AJ, Thoresen M. Hypothermic neuroprotection. *NeuroRx* 2006; 3: 154-69.
35. Gunn AJ, Gluckman PD, Gunn TR. Selective head cooling in newborn infants after perinatal asphyxia: a safety study. *Pediatrics* 1998; 102: 885-92.
36. Battin MR, Dezoete JA, Gunn TR, Gluckman PD, Gunn AJ. Neurodevelopmental outcome of infants treated with head cooling and mild hypothermia after perinatal asphyxia. *Pediatrics* 2001; 107: 480-4.
37. Battin MR, Penrice J, Gunn TR, Gunn AJ. Treatment of term infants with head cooling and systemic hypothermia (35.0 degrees C and 34.5 degrees C) after perinatal asphyxia. *Pediatrics* 2003; 111: 244-51.
38. Gluckman PD, Wyatt JS, Azzopardi D, Ballard D, Edwards AD, Ferriero DM, et al. Selective head cooling with mild systemic hypothermia after neonatal encephalopathy: multicenter randomized trial. *Lancet* 2005; 365: 663-70.
39. Azzopardi D, Robertson NJ, Cowan FM, Rutherford MA, Rampling M, Edwards AD. Pilot study of treatment with whole body hypothermia for neonatal encephalopathy. *Pediatrics* 2000; 106: 684-94.
40. Shankaran S, Laptook A, Wright LL, Ehrenkranz RA, Donovan EF, Fanaroff AA, et al. Whole-body hypothermia for neonatal encephalopathy: animal observations as a basis for randomized, controlled pilot study in term infants. *Pediatrics* 2002; 110: 377-85.
41. Compagnoni G, Pogliani L, Lista G, Castoldi F, Fontana P, Mosca F. Hypothermia reduces neurological damage in asphyxiated newborn infants. *Biol Neonate* 2002; 82: 222-7.
42. Debillon T, Daoud P, Durand P, Cantagel S, Juvet P, Saizou C, et al. Whole-body cooling after perinatal asphyxia: a study in term neonates. *Dev Med Child Neurol* 2003; 45: 17-23.
43. Eicher DJ, Wagner CL, Katikaneni LP, Hulse TC, Bass WT, Kaufman DA, et al. Moderate hypothermia in neonatal encephalopathy: safety outcomes. *Pediatr Neurol* 2005; 32: 18-24.
44. Eicher DJ, Wagner CL, Katikaneni LP, Hulse TC, Bass WT, Kaufman DA, et al. Moderate hypothermia in neonatal encephalopathy: efficacy outcomes. *Pediatr Neurol* 2005; 32: 11-7.
45. Shankaran S, Laptook AR, Ehrenkranz RA, Tyson JE, McDonald SA, Donovan EF, et al. Whole-body hypothermia for neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. *N Engl J Med* 2005; 353: 1574-84.
46. Shankaran S, Laptook A. Challenge of conducting trials

- of neuroprotection in the asphyxiated term infant. *Semin Perinatol* 2003; 27: 320-32.
47. Wyatt JS, Robertson NJ. Time for a cool head-neuroprotection becomes a reality. *Early Hum Dev* 2005; 81: 5-11.
 48. Edwards AD, Azzopardi DV. Therapeutic hypothermia following asphyxia. *Arch Dis Fetal Neonatal Ed* 2006; 91: F127-31.
 49. Wagner BP, Nedelcu J, Martin E. Delayed postischemic hypothermia improves long-term behavioral outcome after cerebral hypoxia-ischemia in neonatal rats. *Pediatr Res* 2002; 51: 354-60.
 50. Ma D, Hossain M, Chow A, Arshad M, Battson RM, Sanders RD, et al. Xenon and hypothermia combine to provide neuroprotection from neonatal asphyxia. *Ann Neurol* 2005; 58: 182-93.
 51. Iwata O, Thornton JS, Sellwood MW, Iwata S, Sakata Y, Noone MA, et al. Depth of delayed cooling alters neuroprotection pattern after hypoxia-ischemia. *Ann Neurol* 2005; 58: 75-87.
 52. Kanagawa T, Fukuda H, Tsbouchi H, Komoto Y, Hayashi S, Fukui O, et al. A decrease of cell proliferation by hypothermia in the hippocampus of the neonatal rat. *Brain Res* 2006; 1111: 36-40.
 53. Hoeger H, Engidawork E, Stolzlechner D, Bubna-Littitz H, Lubec B. Long-term effect of moderate and profound hypothermia on morphology, neurological, cognitive and behavioural functions in a rat model of perinatal asphyxia. *Amino Acids* 2006; 31: 385-96.
 54. Talati AJ, Yang W, Yolton K, et al. Combination of early perinatal factors to identify near-term and term neonates for neuroprotection. *J Perinatol* 2005; 25: 245-50.
 55. Ambalavanan N, Carlo WA, Shankaran S, Bann CM, Emrich SL, Higgins RD, et al. Predicting outcomes of neonates diagnosed with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics* 2006; 118: 2084-93.
 56. Schiffrin BS, Ater S. Fetal hypoxic and ischemic injuries. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2006; 18: 112-22.
 57. Higgins RD, Rahu TN, Perlman J, Azzopardi DV, Blackmon LR, Clark RH, et al. Hypothermia and perinatal asphyxia: executive summary of the National Institute of Child Health and Human Development workshop. *J Pediatr* 2006; 148: 170-5.
 58. Moshé SL. Neuroprotection and epilepsy. Medscape 2000; <http://www.medscape.com>, January 19:1-12.
 59. Pitkänen A. Efficacy of current antiepileptics to prevent neurodegeneration in epilepsy models. *Epilepsy Res* 2002; 50: 141-60.
 60. Calabresi P, Cupini LM, Centonze D, et al. Antiepileptic drugs as a possible neuroprotective strategy in ischemia. *Ann Neurol* 2003; 53: 693-702.
 61. Leker RR, Neufeld MY. Anti-epileptic drugs as possible neuroprotectants in cerebral ischemia. *Brain Res Brain Res Rev* 2003; 42: 187-203.
 62. Sankar R. Neuroprotection in epilepsy: the Holy Grail of antiepileptic therapy. *Epilepsy Behav* 2005; 7 (Suppl 3): S1-2.
 63. Wilmore LJ. Antiepileptic drugs and neuroprotection: current status and future roles. *Epilepsy Behav* 2005; 7 (Suppl 3): S25-8.
 64. Wyllie E, Gupta A, Lachhwani DK (eds). The treatment of epilepsy. Principles and practice. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
 65. Hertz E, Shargool M, Hertz L. Effects of barbiturates on energy metabolism by cultured astrocytes and neurons in the presence of normal and elevated concentrations of potassium. *Neuropharmacology* 1986; 25: 533-9.
 66. Sutula T, Cavazos J, Golarai G. Alteration of long-lasting structural and functional effects of kainic acid in the hippocampus by brief treatment with phenobarbital. *J Neurosci* 1992; 12: 4173-87.
 67. Rekling JC. Neuroprotective effects of anticonvulsants in rat hippocampal slice cultures exposed to oxygen/glucose deprivation. *Neurosci Lett* 2003; 335: 167-70.
 68. Mikati MA, Holmes GL, Chronopoulos A, Hyde P, Thurber S, Gatt A, et al. Phenobarbital modifies seizure-related brain injury in the developing brain. *Ann Neurol* 1994; 36: 425-33.
 69. Bolanos AR, Sarlisian M, Yang Y, Pavone A, Maci T, Perciavalle V. Comparison of valproate and phenobarbital treatment alter status epilepticus in rats. *Neurology* 1998; 51: 41-8.
 70. Diaz J, Schain RJ, Bailey BG. Phenobarbital-induced brain growth retardation in artificially reared rat pups. *Biol Neonate* 1977; 32: 77-82.
 71. Jacobson CD, Antolick LL, Schoiley R, Uemura E. The influence of prenatal phenobarbital on the growth of dendrites in the rat hippocampus. *Brain Res Dev Brain Res* 1988; 44: 233-9.
 72. Bittigau P, Sifringer M, Ikonomidou C. Antiepileptic drugs and apoptosis in the developing brain. *Ann NY Acad Sci* 2003; 993: 103-14.
 73. Hall RT, Hall FK, Daily DK. High-dose Phenobarbital therapy in term newborn infants with severe perinatal asphyxia: a randomized, prospective study with three-year follow-up. *J Pediatr* 1998; 132: 345-8.
 74. Singh D, Kumar P, Majumdar S, Narang A. Effect of Phenobarbital on free radicals in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy-a randomized controlled trial. *J Perinat Med* 2004; 43: 278-81.
 75. Vargas-Origel A, Espinosa-García JO, Muñoz-Quezada E, Vargas-Nieto MA, Aguilar-García G. Prevención de la encefalopatía hipóxico-isquémica con dosis altas, precoces de fenobarbital. *Gac Med Mex* 2004; 140: 147-53.
 76. Farwell JR, Lee JY, Hirtz DG, Sulzbacher SI, Ellenberg JH, Nelson KB. Phenobarbital for febrile seizures-effects on intelligence and on seizure recurrence. *N Engl J Med* 1990; 322: 364-9.
 77. Rataud J, Debarnot F, Mary V, Pratt J, Stutzmann JM. Comparative study of voltage-sensitive sodium channel blockers in focal ischaemia and electric convulsions in rodents. *Neurosci Lett* 1994; 172: 19-23.
 78. Hayakawa T, Amada Y, Maihara T, Hattoti H, Mikawa H. Phenytoin reduces neonatal hypoxic-ischemic brain damage in rats. *Life Sci* 1994; 54: 387-92.
 79. Vartanian MG, Cordon JJ, Kupina NC, et al. Phenytoin pretreatment prevents hypoxic-ischemic brain damage in neonatal rats. *Brain Res Dev Brain Res* 1996; 95: 169-75.
 80. Chan SA, Reid KH, Schurr A, Miller JJ, Iyer V, Tseng MT. Fosphenytoin reduces hippocampal neuronal damage in rat following transient global ischemia. *Acta Neurochir (Wien)* 1998; 140: 175-80.
 81. Weber ML, Taylor CP. Damage from oxygen and glucose deprivation in hippocampal slices is prevented by tetrodotoxin, lidocaine and phenytoin without blockade of action potentials. *Brain Res* 1994; 664:167-77.
 82. Kaptanoglou E, Solaroglu I, Surucu HS, Akbiyik F, Beskonakli E. Blockade of sodium channels by phenytoin protects ultrastructure and attenuates lipid peroxidation in experimental spinal cord injury. *Acta Neurochir (Wien)* 2005; 147: 405-12.
 83. Dong LP, Wang TY, Zhu J. Effects of carbamazepine on hypoxic and ischemic damage in mice. *Zhongguo Yao Li Xue Bao* 1994; 15: 257-9.
 84. Minato H, Kikuta C, Fujitani B, Masuda Y. Protective

- effect of zonisamide, and antiepileptic drug, against transient focal cerebral ischemia with middle cerebral artery occlusion-reperfusion in rats. *Epilepsia* 1997; 38: 975-80.
85. Eyal S, Yagen B, Sobol E, Altschuler Y, Shmuel M, Bialer M. The activity of antiepileptic drugs as histone deacetylase inhibitors. *Epilepsia* 2004; 45: 737-44.
 86. Jeong MR, Hashimoto R, Senatorov VV, et al. Valproic acid, a mood stabilizer and anticonvulsant, protects rat cerebral cortical neurons from spontaneous cell death: a role of histone deacetylase inhibition. *FEBS Lett* 2003; 542: 74-8.
 87. Leng Y, Chuang DM. Endogenous alpha-synuclein is induced by valproic acid through histone deacetylase inhibition and participates in neuroprotection against glutamate-induced excitotoxicity. *J Neurosci* 2006; 26: 7502-12.
 88. Kabakus N, Ay I, Aysun S, Soylemezoglu F, Ozcan A, Celasun B. Protective effects of valproic acid against hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *J Child Neurol* 2005; 20: 582-7.
 89. Thurston JH, Hauhart RE. Valproate doubles the anoxic survival time of normal developing mice: possible relevance to valproate-induced decreases in cerebral levels of glutamate and aspartate, and increases in taurine. *Life Sci* 1989; 45: 59-62.
 90. Brandt C, Gastens AM, Sun M, Hauknecht M, Loscher W. Treatment with valproate after status epilepticus: effect on neuronal damage, epileptogenesis, and behavioral alterations in rats. *Neuropharmacology* 2006; 51: 789-804.
 91. Williams JA, Barreiro CJ, Nwakanma KU, et al. Valproic acid prevents brain injury in a canine model of hypothermic circulatory arrest: a promising new approach to neuroprotection during cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2006; 81: 2235-41.
 92. Mora A, González-Polo RA, Fuentes JM, Soler G, Centeno F. Different mechanisms of protection against apoptosis by valproate and Li+. *Eur J Biochem* 1999; 266: 886-91.
 93. Chuang DM. The antiapoptotic actions of mood stabilizers: molecular mechanisms and therapeutic potentials. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1053: 195-204.
 94. Pan T, Li X, Xie W, Jankovic J, Le W. Valproic acid mediated Hsp70 induction and anti-apoptotic neuro-protection in SH-SY5Y cells. *FEBS Lett* 2005; 579: 6716-20.
 95. Klitgaard HV, Matagne AC, Vanneste-Goemare J, Margineanu DG. Effects of prolonged administration of levetiracetam on pilocarpine-induced epileptogenesis. *Epilepsia* 2001; 42 (Supl 7): 114-5.
 96. Traystman RJ, Klaus JA, DeVries AC, Shaivitz AB, Hurn PD. Anticonvulsant lamotrigine administered on reperfusion fails to improve experimental stroke outcomes. *Stroke* 2001; 32: 783-7.
 97. Lee WT, Shen YZ, Chang C. Neuroprotective effect of lamotrigine and MK-801 on rat brain lesions induced by 3-nitropropionic acid: evaluation by magnetic resonance imaging and in vivo proton magnetic spectroscopy. *Neuroscience* 2000; 95: 89-95.
 98. Smith SE, Meldrum BS. Cerebroprotective effect of lamotrigine after focal ischemia in rats. *Stroke* 1995; 26: 117-21.
 99. Wiard RP, Dickerson MC, Beek O, Norton R, Cooper BR. Neuroprotective properties of the novel antiepileptic lamotrigine in a gerbil model of global cerebral ischemia. *Stroke* 1995; 26: 466-72.
 100. Shuaib A, Mahmood RH, Wishart T, Kanthan R, Murabit MA, Ijaz S, et al. Neuroprotective effects of lamotrigine in global ischemia in gerbils. A histological, in vivo microdialysis and behavioural study. *Brain Res* 1995; 702: 199-206.
 101. Crumrine RC, Bergstrand K, Cooper AT, Faison WL, Cooper BR. Lamotrigine protects hippocampal CA1 neurons from ischemic damage after cardiac arrest. *Stroke* 1997; 28: 2230-7.
 102. Lee YS, Yoon BW, Roth JK. Neuroprotective effect of lamotrigine enhanced by flunarizine in gerbil global ischemia. *Neurosci Lett* 1999; 265: 215-7.
 103. Koinig H, Morimoto Y, Zornow MH. The combination of lamotrigine and mild hypothermia prevents ischemia-induced in hippocampal glutamate. *J Neurosurg Anesthesiol* 2001; 13: 106-12.
 104. Yang Y, Shuaib B, Li Q, Siddiqui MS. Neuroprotection by delayed administration of topiramate in a rat model of middle cerebral artery embolization. *Brain Res* 1998; 804: 169-76.
 105. Yang Y, Li Q, Miyashita H, Howlett W, Siddiqui M, Shuaib A. Usefulness of postischemic thrombolysis with or without neuroprotection in a focal embolic model of cerebral ischemia. *J Neurosurg* 2000; 92: 841-7.
 106. Lee SR, Kim SOP, Kim JE. Protective effect of topiramate against hippocampal neuronal damage after global ischemia in the gerbils. *Neurosci Lett* 2000; 281: 183-6.
 107. Niebauer M, Gruenthal M. Topiramate reduces neuronal injury after experimental status epilepticus. *Brain Res* 1999; 837: 263-9.
 108. Koh S, Jensen FE. Topiramate blocks perinatal hypoxia-induced seizures in rat pups. *Ann Neurol* 2001; 50: 366-72.
 109. Schubert S, Brandt U, Brodhun M, et al. Neuroprotective effects of topiramate after hypoxia-ischemia in newborn piglets. *Brain Res* 2005; 1958: 129-36.
 110. Follett PL, Deng W, Dai W, et al. Glutamate receptor-mediated oligodendrocyte toxicity in periventricular leukomalacia: a protective role for topiramate. *J Neurosci* 2004; 24: 4412-20.
 111. Sfaello I, Baud O, Arzimanoglou A, Gressens P. Topiramate prevents excitotoxic damage in the newborn rodent brain. *Neurobiol Dis* 2005; 20: 837-48.
 112. Glier C, Dzielito M, Bittigqau P, Jarosz B, Korobowicz E, Ikomidou C. Therapeutic doses of topiramate are not toxic to the developing brain. *Exp Neurol* 2004; 187: 403-9.
 113. Owen AJ, Ijaz S, Miyashita H, Wishart T, Howlett W, Shuaib A. Zonisamide as a neuroprotective agent in an adult gerbil model of global forebrain ischemia: a histological, in vivo microdialysis and behavioral study. *Brain Res* 1997; 770: 115-22.
 114. Hayakawa T, Higuchi Y, Nigami H, Hattori H. Zonisamide reduces hypoxic-ischemic brain damage in neonatal rats irrespective of its anticonvulsant effect. *Eur J Pharmacol* 1994; 257: 131-6.
 115. Hanon E, Klitgaard H. Neuroprotective properties of the novel antiepileptic drug levetiracetam in the rat middle cerebral artery occlusion model of focal cerebral ischemia. *Seizure* 2001; 10: 287-93.
 116. Kim DH, Zhao X, Tu CH, Casaccia-Bonnel P, Chao MV. Prevention of apoptotic but not necrotic injury by neurotrophins signaling through the tyrosine kinase receptor. *J Neurosurg* 2004; 100: 79-87.
 117. Brywe KG, Mallard C, Gustqvsson M, et al. IGF-I neuroprotection in the immature brain after hypoxic-ischemia, involvement of Akt and GSK3beta? *Eur J Neurosci* 2005; 21: 1489-502.
 118. Russell JC, Szufliata N, Khatri R, Laterra J, Hossain MA.

- Transgenic expression of human FGF-1 protects against hypoxic-ischemic injury in perinatal brain by intervening at caspase-XIAP signaling cascades. *Neurobiol Dis* 2006; 22: 677-90.
119. Lin CH, Cheng FC, Lu YZ, Chu LF, Wang CH, Hsueh CM. Protection of ischemic brain cells is dependent on astrocyte-derived growth factors and their receptors. *Exp Neurol* 2006; 201: 225-33.
 120. Galvin KA, Oorschot DE. Continuous low dose treatment with brain-derived neurotrophic factor or neurotrophin-3 protects striatal medium spiny neurons from mild neonatal hypoxia/ischemia: a stereological study. *Neuroscience* 2003; 118: 1023-32.
 121. Chiaretti A, Genovese O, Riccardi R, et al. Intraventricular nerve growth factor infusion: a possible treatment for neurological deficits following hypoxic-ischemic brain injury in infants. *Neurosci Res* 2005; 27: 741-6.
 122. Katsurtagi S, Ikeda T, Date I, Shingo T, Yasuhara T, Ike-noue T. Grafting of glial cell line-derived neurotrophic factor secreting cells for hypoxic-ischemic encephalopathy in neonatal rats. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192: 1137-45.
 123. Tabakman R, Jiang H, Shahar I, Arien-Zakay H, Levine RA, Lazarovici P. Neuroprotection by NGF in the PC12 *in vitro* OGD model: involvement of mitogen-activated protein kinases and gene expression. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1053: 84-96.
 124. Aguilar LC, Islas A, Rosique P, Hernández B, Portillo E, Herrera JM, et al. Psychometric analysis in children with mental retardation due to perinatal hypoxia treated with fibroblast growth factor (FGF) and showing improvement in mental development. *J Intellect Disabil Res* 1993; 37: 507-20.
 125. Millan M, Arenillas J. Gene expression in cerebral ischemia: a new approach for neuroprotection. *Cerebrovasc Dis* 2006; 21 (Supl 2) 30-7.
 126. Yenari MA, Minami M, Huan Sun G, et al. Calbindin D28K overexpression protects striatal neurons from transient focal cerebral ischemia. *Stroke* 2001; 32: 1028-35.
 127. Linnik MD, Zahos P, Geschwind MD, Federoff HJ. Expression of bcl2 from a defective herpes simplex virus-1 vector limits neuronal death in focal cerebral ischemia. *Stroke* 1995; 26: 1670-4
 128. Jia WW, Wang Y, Qiang D, Tufaro F, Remington R, Cynader M. A bcl-2 expressing viral vector protects cortical neurons from excitotoxicity even when administered several hours after the toxic insult. *Brain Res Mol Brain Res* 1996; 42: 350-3
 129. Sasaki T, Kitagawa K, Yagita Y, et al. Bcl2 enhances survival of newborn neurons in the normal and ischemic hippocampus. *J Neurosci Res* 2006; 84: 1187-96.
 130. Shen F, Su H, Fan Y, Chen Y, et al. Adeno-associated viral vector mediated hypoxia-inducible vascular endothelial growth factor gene expression attenuates ischemic brain injury after focal cerebral ischemia in mice. *Stroke* 2006; 37: 2601-6.
 131. Tai YT, Svendsen CN. Stem cells as a potential treatment of neurological disorders. *Curr Opin Pharmacol* 2004; 4: 98-104.
 132. Longhi L, Zanier ER, Royo N, Stocchetti N, McIntosh TK. Stem cell transplantation as a therapeutic strategy for traumatic brain injury. *Transpl Immunol* 2005; 15: 143-8.
 133. Qu SQ, Luan Z, Yin GC, et al. Transplantation of human fetal neural stem cells into cerebral ventricle of the neonatal rat following hypoxic-ischemic injury: survival, migration and differentiation. *Zhonghua Er Ke Za Zhi* 2005; 43: 576-9.
 134. Zheng T, Rossignol C, Leibovici A, Anderson KJ, Steindler DA, Weiss MD. Transplantation of multipotent astrocytic stem cells into a rat model of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Brain Res* 2006; 1112: 99-105.
 135. Yasuhara T, Matsukawa N, Yu G, Xu L, Mays RW, Kovach J, et al. Transplantation of cryopreserved human bone marrow-derived multipotent adult progenitor cells for neonatal hypoxic-ischemic injury: targeting the hippocampus. *Rev Neurosci* 2006; 17: 215-25.
 136. Jensen A, Vaihinger HM, Meier C. [Perinatal brain damage-from neuroprotection to neurodegeneration using cord blood stem cells]. *Med Klin (Munich)* 2003; 98 (Supl 2): 22-6.
 137. Borlongan CV, Hadman M, Sanberg CD, Sanberg PR. Central nervous system entry of peripherally injected umbilical cord blood cells is not required for neuroprotection in stroke. *Stroke* 2004; 35: 2385-9.
 138. Meier C, Middelanis J, Wasielewski B, Neuhoﬀ S, Roth-Haerer A, Ganter M, et al. Spastic paresis after perinatal brain damage in rats is reduced by human cord blood mononuclear cells. *Pediatr Res* 2006; 59: 244-9.
 139. Ang BT, XU G, Xiao ZC. Therapeutic vaccination for central nervous system repair. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33: 541-5.
 140. Doring MJ, Symes CW, Lawlor PA, Lin J, Dunning J, Fitzsimons HL, et al. An oral vaccine against NMDAR1 with efficacy in experimental stroke and epilepsy. *Science* 2000; 287: 1453-60.

Je ne partage pas vos idées, pourtant je suis prêts à mourir pour que vous puissiez les exprimer.

No comparto sus ideas, sin embargo estoy dispuesto a morir para que pueda expresarlas.

Voltaire (1694-1778)